

Your Reference: 33887 JP-WO/MDbj
Our Reference: 211813C

Citation 2:

JP Patent Appl. Publ. No. 10-146166 - 02 June 1998

Application No. 8-321211 - 18 November 1996

Applicant: JAPAN SAKE BREWERS ASSOCIATION, Tokyo, JP

Title: PHYSIOLOGICALLY ACTIVE COMPOSITION

[Excerpt of the descriptive part of the specification]

[0027] [Example 2]

The inhibitory effect of Sake lees on toxohormone-L (a lipolytic substance) was confirmed by the following process.

[0028] (1) Preparation of Sake lee extract

By weighing 1 g (expressed in terms of wet weight) of Sake lees, adding 5 mL of distilled water thereto, homogenizing the resultant mixture with a polytron homogenizer (Kinematica), then centrifuging the homogenate at 2,000 rpm. for 5 minutes, the resultant supernatant at a concentration corresponding to a 50 mg/L water extract solution of the Sake lees was prepared. The solution was diluted and each concentration was measured.

[0029] (2) Preparation of reagents

a) NEFA extract solution: Chloroform of 980 mL, heptane of 980 mL and methanol of 40 mL were mixed well to prepare NEFA extract solution.

b) Copper reagent: Triethanolamine of 2.98 g, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ of 2.42 g and NaOH of 0.48 g were dissolved in water to make the volume of 200 mL and NaCl of 66 g was added and dissolved to prepare copper reagent.

c) Chromogenic reagent: Bathocuproin of 0.2 g and butyl hydroxyanisole of 0.1 g were dissolved in chloroform to make the volume of 200 mL to prepare chromogenic reagent.

Your Reference: 33887 JP-WO/MTbj

Our Reference: 211813C

[0030] (3) Measurement of inhibitory activity on toxohormone-L

2.5% BSA solution of 200 μ L, water extract solution of Sake lees of 25 μ L and toxohormone-L of 25 μ L were mixed, then Packed fat cells of 50 μ L was added and the mixture was incubated at 37 °C for 1 hour. Then the water extract solution of Sake lees of 3 mL was added to stop the reaction. After the mixture was shaken for 10 minutes, it was centrifuged at 2,500 rpm for 5 minutes.

[0031]

The top layer (water layer) was removed by aspiration. The copper reagent of 1 mL was added and centrifuged at 2,500 rpm for 10 minutes. The top layer of 0.5 mL was poured into another test tube to which the chromogenic reagent was added and mixed well to measure its absorbance (wave length: 480 nm).

[0032]

The result obtained is shown in FIG. 2. As indicated by this result, Sake lees extract inhibits the lipolysis by toxohormone-L in fat cells.

[0033]

Toxohormone-L is a glycoprotein with a molecular weight of approximately 70,000 and having aspartic acid in its N-terminal has appetite-decreasing effect as well as lipolytic effect and is secreted from cancer cells. A rapid weight loss in cancer patients is attributed in part to lipolysis of the existing fat and also anorexia both caused by toxohormone-L secreted from cancer cells. Therefore, the inhibition of toxohormone-L can stop the rapid weight loss in cancer patients and thereby maintain body strength to tolerate chemotherapy or radiotherapy and Sake lees are very useful as a physiologically active composition supporting cancer treatment indirectly.

.....

Your Reference: 33887 JP-WO/MDbj

Our Reference: 211813C

[0042] [Example 4]

The insulin-like effect of the water extract solution fractions of Sake lees was confirmed by the following process:

[0043] (1) Water extract solution fractions of Sake lees

Using Sephadex G-10 (brand name), the water extract solution of Sake lees was fractioned into 6 segments and the segment 3 of 62.5 mg was separated into the adsorbed and non-adsorbed segments by IR 120B (brand name) to give the IR120B-adsorbed segment of 15.8 mg (lyophilized weight) and the IR120B-non-adsorbed segment of 25.7 mg (lyophilized weight). The yield was $41.5/62.5 \times 100 = 66.4\%$.

[0044]

The adsorbed segment was fractioned by reverse-phase chromatography using ODS-80T (brand name). The conditions for the reverse-phase chromatography are as follows: HPLC, Shimazu LC-9A; buffer, 20% acetonitrile; flow rate, 3 mL/min; column, TOSO-ODS-80Ts (21.5 x 300 mm) for separation; detector, O.D._{220nm} (RANGE 1.28); fraction, ADVANTEC SF-2120, separated into 3 mL/tube.

[0045]

The adsorbed segment described above of 4 mg was collected as a sample and dissolved in water of 20 mL to be fractioned (injected of 500 μ L each for 4 doses). The sample was fractioned into 9 segments and 4 segments were combined and then lyophilized. The combined volumes of each segment after fraction were as follows:

Segment 1: approximately 144 mL

Segment 2: approximately 72 mL

Segment 3: approximately 60 mL

Segment 4: approximately 36 mL

Your Reference: 33887 JP-WO/MDbj
Our Reference: 211813C

Segment 5: approximately 36 mL

Segment 6: approximately 132 mL

Segment 7: approximately 120 mL

Segment 8: approximately 48 mL

Segment 9: approximately 36 mL

[0046] (2) Measurement of lipolysis

In (3) of Example 3, the measurement was conducted with the same operational conditions except that the sample solutions (Segment 1-9 solutions described above) were used instead of the water extract solution of Sake lees. The result obtained is shown in FIG. 5. As indicated by the result described above, it was confirmed that the water extract fractions of Sake lees (Segment 1, 7 and 9 in particular) have also a similar effect with that of the water extract solution of Sake lees.

[0047] [Example 5]

To granulated sugar of 50 g, an equivalent mixture of cornstarch and lactose of 30 g and vitamin C of 20 g, 20 g of the lyophilized product of Sake lee extract produced according to Example 1 was added and mixed. The mixture obtained was equally divided into 100 parts and was packaged in a sack to produce 100 sack compositions in a form of stick-like food.

[0048] [Example 6]

To granulated sugar of 150 g, honey of 15 g, vitamin C of 1 g, citric acid of 0.5 g, 100 g of the lyophilized product of Sake lee extract produced according to Example 1, appropriate quantities of perfume material, water was added to make 1 kg, and the mixture was sterilized at 95 °C for 20 minutes, then filled 100 mL each in bottles to produce liquid compositions for drinking.

Your Reference: 33887 JP-WO/MDbj

Our Reference: 211813C

[0049] [Effect of the Invention]

The compositions according the present invention having physiological activity such as enhancement of NK cell activity, inhibition of toxohormone-L activity, insulin-like effect and inhibition of amylase activity are effective for the prevention or the treatment of, for example, cancer, weight loss caused by cancer, diabetes mellitus and obesity.

[0050]

Since the present composition uses Sake lees with no safety problems, it can be taken for a long period as a composition for drinking and eating and is also advantageously used for prevention of the above-mentioned diseases and symptoms and for postoperative management or health care of these patients.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-146166

(43) 公開日 平成10年(1998) 6 月 2 日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30 Z
2/52		2/38 C
2/38		N
C 1 2 G 3/02	1 1 9	C 1 2 G 3/02 1 1 9 V
		A 6 1 K 35/78 A D P U

審査請求 未請求 請求項の数 5 F I (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平8-321211

(22) 出願日 平成 8 年 (1996) 11 月 18 日

(71) 出願人 591272756

日本酒造組合中央会

東京都港区西新橋 1 丁目 1 番 21 号

(72) 発明者 奥田 拓道

愛媛県松山市鷹の子町 1174-17

(74) 代理人 弁理士 戸田 親男

(54) 【発明の名称】 生理活性組成物

(57) 【要約】

【解決手段】 酒粕、酒粕水抽出液、及び／又は処理物を有効成分として含有することを特徴とする生理活性組成物。

【効果】 本有効成分は、NK細胞活性の促進、トキソホルモン-1の阻害、インスリン様作用、アミラーゼ阻害等の生理活性を有するため、本組成物は、癌（それに起因するやせ症状）、糖尿病、肥満等の予防、治療、あるいは保健に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 酒粕、酒粕の水抽出液、及び／又は、処理物を有効成分として含有すること、を特徴とする生理活性組成物。

【請求項2】 酒粕の水抽出液は、酒粕に水を加えた後ホモジナイズし、次いで遠心分離して得た上清であること、を特徴とする請求項1に記載の組成物。

【請求項3】 該処理物が、濃縮物、ペースト化物、及び／又は、乾燥物であること、を特徴とする請求項1又は2に記載の組成物。

【請求項4】 生理活性が、NK細胞活性の促進、トキソホルモン- L の阻害、インスリン様作用、及び／又は、アミラーゼの阻害であること、を特徴とする請求項1～3のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項5】 該組成物が、医薬品タイプ及び／又は、食品タイプであること、を特徴とする請求項1～4のいずれか1項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】本発明は、生理活性組成物に関し、更に詳細には、NK細胞(natural killer cells)活性化作用、アミラーゼ阻害作用等すぐれた生理活性を有する酒粕由来の組成物に関するものである。

【0002】

【従来の技術】酒粕は、清酒もろみから清酒を分離した後の残渣であって、従来、工業的に格別な用途はなく、粕取焼酎、奈良漬、粕酢等の製造原料として、あるいは粕汁等の素材として限定的に消費されているにすぎない。したがって、このような用途に利用されなかった酒粕は廃棄物として処理しなければならないが、酒粕は栄養物に富むために腐敗しやすく、放置しておくことができないし、また、水分含量も高いために焼却処理するにはコストがかかるという欠点は避けられない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、このような技術背景に鑑み、酒粕を有効に処理する新しいシステムを開発する目的でなされたものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記目的を達成するためになされたものであって、酒粕について、これを廃棄物として取扱い、焼却したりするのではなく、これを更に積極的に有効利用することを目的としてなされたものである。

【0005】そこで本発明者らは、各方面から酒粕に含まれる機能性物質について検討した結果、酒粕にはNK細胞活性化作用があることを見出した。そして

この有用新知見にとどまらず、本発明者らは更に研究を続けた結果、アミラーゼ阻害作用、トキソホルモン- L 阻害作用、インスリン様作用を酒粕が有することを新たに見出し、酒粕を由来とする生理活性組成物に関する本発明を完成するに至った。以下、本発明について詳述する。

【0006】

【発明の実施の形態】本発明は、酒粕を有効成分として含有せしめてなる生理活性組成物を基本的技術思想とするものであって、本有効成分が、NK細胞活性の促進、トキソホルモン- L の阻害、インスリン様作用、アミラーゼ阻害という有用な機能を有することから、本組成物は、例えば、それぞれ、癌、癌に起因するやせ症状、糖尿病、肥満の予防及び／又は治療に有用であり、特に飲食品タイプの組成物として長期間摂取すれば特にすぐれた効果が期待される。

【0007】本組成物の有効成分としては、酒粕が使用されるが、これを濃縮したり水抽出すれば更に効果が高まる。水抽出法としては、酒粕に蒸留水(脱イオン水)を加えて攪拌し(必要あればホモゲナイズし)、遠心分離(滲過)して、上清を得、これを酒粕抽出液とする。そして、この酒粕抽出液を本組成物の有効成分として使用するのである。

【0008】酒粕抽出液は、濃縮して有効成分濃度を更に高めてもよく、例えば、濃縮物、ペースト化物、乾燥物といった処理物とすることができ、これらの段階で有効成分濃度を所望値にコントロールすることも可能である。また、酒粕抽出液の各種処理物に水を添加して有効成分濃度を所望値にコントロールすることも可能であり、更に、このようにして調製した加水物に上記処理物を所望比率で添加混合して、有効成分濃度のコントロールを行うことも可能である。

【0009】本発明は、酒粕、酒粕抽出液、及び／又は処理物を有効成分とする生理活性組成物をその主題とするものであって、本組成物は、すぐれたNK細胞活性の促進、トキソホルモン- L の阻害、インスリン様作用、アミラーゼの阻害等の生理活性を有するものであり、しかも本有効成分は酒粕由来である故、本来食品中に含まれるものであって、安全性についても問題はなく、各種タイプの組成物として広範に使用できる。

【0010】本組成物は、後記する実施例からも明らかなように、各種のすぐれた生理活性作用を有するものであり、そのうちのひとつとして、酒粕によるアミラーゼの阻害作用が確認された(下記表1)。

【0011】**【表1】**

サンプル濃度	A 660nm		Average	Caraway 単 位	% コントロール
	A 1	A 2			
ブランク	0.310		0.310		
コントロール	0.009	0.008	0.009	778.1	100.0
酒粕 0.05mg	0.045	0.046	0.046	682.6	87.7
酒粕 0.10mg	0.060	0.066	0.063	637.4	81.9
酒粕 0.50mg	0.103	0.105	0.104	531.6	68.3
酒粕 1.00mg	0.131	0.129	0.130	464.5	59.7
酒粕 5.00mg	0.164	0.165	0.165	375.5	48.3
酒粕 10.0mg	0.161	0.168	0.165	375.5	48.3

【0012】上記結果から明らかなように、酒粕5mg/mlでアミラーゼを51.7%阻害している(100%-48.3%)。このことは、酒粕を有効成分とする本組成物を経口摂取することにより、アミラーゼ活性が低下し、その結果、でんぷんの分解、腸からの吸収が遅れ、そのため、血糖上昇の抑制、インスリンの急激な上昇が阻止されることとなり、肥満の予防ないし防止が可能であることを示すことにほかならない。

【0013】本組成物は、例えば、ヒト又は動物用の医薬品、飲食品、調製粉乳、経腸栄養剤、健康飲食品、飼料添加物等各種タイプの組成物として実用に供することができる。また、投与方法は、経口投与、静脈内投与、患部への直接投与のどの方法を用いてもよい。

【0014】有効成分の配合量は、任意でよいが、使用目的(予防、保健、又は治療)、患者の年齢、投与方法、剤型等に応じて適宜定めればよく、通常、0.0001~10%の範囲が適当である。しかしながら、長期間に亘って保健上ないし健康維持の目的で摂取する場合には、上記範囲よりも少量であってもよいし、また本有効成分は、安全性について問題がないので、上記範囲よりも多量に使用しても一向にさしつかえない。現にマウスを用いた10日間の急性毒性試験の結果、1000mg/kgの経口投与でも死亡例は認められなかった。

【0015】飲食品タイプの組成物として使用する場合には、本有効成分(その処理物)をそのまま使用したり、他の食品ないし食品成分と併用したりして適宜常法にしたがって使用できる。本有効成分を用いる本発明に係る組成物は、固体状(粉末、顆粒状その他)、ペースト状、液状ないし懸濁状のいずれでもよいが、甘味料、酸味料、ビタミン剤その他ドリンク剤製造に常用される各種成分を用いて、健康ドリンクに製剤化すると好適である。

【0016】医薬品タイプの組成物として使用する場

合、本有効成分は、種々の形態で投与される。その投与形態としては例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤等による経口投与をあげることができる。これらの各種製剤は、常法に従って主薬に賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味矯臭剤、溶解補助剤、懸濁剤、コーティング剤などの医薬の製剤技術分野において通常使用しうる既知の補助剤を用いて製剤化することができる。その使用量は症状、年齢、体重、投与方法および剤形等によって異なるが、通常は、成人に対して、1日当たり、静脈投与の場合は、体重1kg当たり、0.01mg~1000mgを投与することができ、筋肉投与の場合は同じく0.01mg~1000mgを投与することができる。また、経口投与の場合には同じく0.5~2000mg、好ましくは1~1000mgの範囲内で投与するのがよい。

【0017】以下に、本発明の実施例を示す。

【0018】

【実施例1】酒粕によるNK活性の促進作用を以下により確認した。

【0019】(1)赤血球融解用緩衝液-塩化アンモニウム-トリリス等張緩衝液の調製

0.83% NH_4Cl とトリリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(20.594g/l、pH7.65)とを9:1(v/v)の割合で混合して使用した。

【0020】(2)酒粕抽出液の調製

酒粕を湿重量で2.5g秤量し、これに蒸留水5mlを加え、ポリトロン(キネマティカ社製)を用いてホモジナイズした後、2000rpmで5分間、遠心分離し、得られた上清を酒粕水抽出液50mg/l相当濃度(終濃度1mg/ml)の溶液とした。この溶液の一部を凍結乾燥し、凍結乾燥後の酒粕5mgを蒸留水1mlに溶かし、この溶液を100 μg /ml相当濃度の溶液とした。

【0021】(3) マウス脾細胞の調製

マウス(CH₃/HeJ、5週齢、雄性：日本クレア社)から脾臓を摘出した。摘出した脾臓を、10% FCS-RPMI 1640培養液中(水浴中)で、鉗子を用いて細かくつぶした。200rpmで2分間遠心分離した。上清をすてた後、10% FCS-RPMI 1640培養液を加え、次いで2000rpmで3分間遠心分離して、細胞ペレットと上清に分離した。上清をすてた後、細胞ペレット0.1ml/1ml塩化アンモニウムトリス等張緩衝液の割合で加え、1分間よく混合した。

【0022】10% FCS-RPMI 1640培養液で(2000rpm、3分間の遠心分離)3回洗浄した。次いで細胞が 4.0×10^7 個/mlになるように、10% FCS-RPMI 1640培養液に浮遊せしめて、細胞浮遊液を調製した。6穴マイクロプレートに、10% FCS-RPMI 1640培養液3.9ml、細胞浮遊液1ml、酒粕または10% FCS-RPMI 1640培養液100 μ lを分注し、CO₂インキュベーターで2日間培養した。

【0023】(4) YAC-1細胞への⁵¹Crの標識化 YAC-1細胞をRPMI 1640培養液で培養し、対数増殖期にある生存率90%以上の細胞 10×10^6 個を、スピッツ遠心管を用い、無血清RPMI 1640培養液で(2000rpm、3分間の遠心分離)3回洗浄した。次いで、Na₂⁵¹CrO₄ 0.1ml(日本アイソトープ協会、0.5Ci/0.5ml)を添加した後、10% FCS-RPMI 1640培養液で(2000rpm、3分間の遠心分離)4回洗浄した。そして、 3.0×10^5 個/mlになるように10% FCS-RPMI 1640培養液に浮遊した。

【0024】(5) NK活性の測定

マウス脾単核球を10% FCS-RPMI 1640培養液で3回洗浄した後、 1.0×10^7 個/mlになるように10% FCS-RPMI 1640培養液に浮遊した。細胞浮遊液を、96ウェルU底マイクロプレートに150 μ lずつ分注した。そして、⁵¹Cr標識YAC-1細胞を50 μ lずつウェルに分注した。96ウェルマイクロプレート遠心器にて、1000rpmで5分間遠心分離した。CO₂インキュベーターで、4時間、37℃でインキュベートした。96ウェルマイクロプレート遠心器にて、1000rpmで5分間遠心分離した。小試験管に上清100 μ lをとり、 γ -カウンターで測定し、測定結果から、次式により%NK活性を算定した。

【0025】

%NK Lysis = (E-S) / (M-S) × 100
但し式中、

M: maximum release

YAC-1細胞を1N NaOHで破壊したcpm

S: spontaneous release

YAC-1細胞を10% FCS-RPMI 1640で培養液中に自然遊離したcpm

E: experimental release

YAC-1細胞とマウス脾単核球を反応させた後のcpm

【0026】得られた結果を図1に示す。この結果から明らかなように、酒粕抽出液は100 μ g/mlでNK活性を増強することがわかる。

【0027】

【実施例2】酒粕によるトキソホルモン-L(脂肪分解物質)に対する阻害作用を以下により確認した。

【0028】(1) 酒粕抽出液の調製

酒粕を湿重量で1g秤量し、これに蒸留水5mlを加え、ポリトロン(キネマティカ社製)を用いてホモジナイズした後、2000rpmで5分間、遠心分離し、得られた上清を酒粕水抽出液20mg/ml相当濃度の溶液とした。この溶液を希釈して、各濃度の測定を行った。

【0029】(2) 試薬の調製

a) NEFA抽出液: クロロホルム980ml、ヘプタン980ml、メタノール40mlを充分混合してNEFA抽出液を調製した。

b) 銅試薬: トリエタノールアミン2.98g、Cu(NO₃)₂·3H₂O 2.42g、NaOH 0.48gを水に溶かし、200mlにメスアップし、NaCl 66gを添加、溶解して銅試薬を調製した。

c) 発色試薬: バソクプロイン0.2g、ブチルヒドロキシアニソール0.1gをクロロホルムに溶かし、200mlにメスアップして発色試薬を調製した。

【0030】(3) トキソホルモン-L阻害活性の測定 2.5%BSA溶液200 μ l、酒粕水抽出液25 μ l、トキソホルモン-L25 μ lを混合した後、Packaged fat cells 50 μ lを添加し、37℃で1時間インキュベートした。次いで、酒粕水抽出液を3ml加え、反応を停止した。10分間振とうした後、2500rpmで5分間遠心分離した。

【0031】上層(水層)を吸引除去した。銅試薬1mlを加え、10分間振とうした後、2500rpmで10分間遠心分離した。上層0.5mlを別の試験管に入れ、発色試薬0.5mlを加えてよく混合し、吸光度を測定した(波長: 480nm)。

【0032】得られた結果を図2に示す。この結果から明らかなように、酒粕抽出液は、脂肪細胞におけるトキソホルモン-Lの脂肪分解を阻害することがわかる。

【0033】トキソホルモン-Lは、分子量約7万でN末端にアスパラギン酸を有する糖蛋白質であって、脂肪分解性のほかに食欲低下作用を有する物質であり、癌細胞から分泌されている。したがって、癌患者の急激なやせの原因のひとつは、癌細胞から分泌されたトキソホル

モン- L によって、現在溜まっている脂肪が分解されるとともに、食欲が低下することによるものと考えられているところから、トキソホルモン- L を阻害することにより、癌患者の急激なやせを止め、その結果、制癌剤や放射線療法に耐える体力を維持することが可能となり、酒粕は、癌の治療を側面から支援する生理活性組成物として非常に有用である。

【0034】

【実施例3】酒粕によるインスリン様作用、つまり、脂肪合成には影響を与えず、脂肪分解を阻害する作用を以下により確認した。

【0035】A：脂肪分解の測定：

(1) 酒粕抽出液の調製

酒粕を湿重量で1g秤量し、これに蒸留水5mlを加え、ポリトロン（キネマティカ社製）を用いてホモジナイズした後、2000rpmで5分間、遠心分離し、得られた上清を酒粕水抽出液20mg/ml相当濃度（終濃度）の溶液とした。この溶液を希釈して、各濃度の測定を行った。

【0036】(2) 試薬の調製

a) NEFA抽出液：クロロホルム980ml、ヘプタン980ml、メタノール40mlを充分混合してNEFA抽出液を調製した。

b) 銅試薬：トリエタノールアミン2.98g、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 2.42g、 NaOH 0.48gを水に溶かし、200mlにメスアップし、 NaCl 66gを添加、溶解して銅試薬を調製した。

c) 発色試薬：バソクプロイン0.2g、ブチルヒドロキシアニソール0.1gをクロロホルムに溶かし、200mlにメスアップして発色試薬を調製した。

【0037】(3) 脂肪分解の測定

実施例2(3)において、トキソホルモン- L にかえてノルエピネフリン(Norepinephrine)を用いたほかは、同じ操作を行って測定を実施した。得られた結果を図3に示した。

【0038】B：脂肪合成の測定：

(1) 酒粕抽出液の調製

酒粕を湿重量で250mg秤量し、これに蒸留水5mlを加え、ポリトロン（キネマティカ社製）を用いてホモジナイズした後、2000rpmで5分間、遠心分離し、得られた上清を酒粕水抽出液5mg/ml相当濃度（終濃度）の溶液とした。この溶液を希釈して、各濃度の測定を行った。

【0039】(2) 試薬の調製

a) 6%BSA、3mMグルコース溶液：活性炭処理済のBSA 1.5gをハンクス緩衝液25mlに溶解し、これにグルコース15.5mgを溶解し、pH7.4に調整して、本溶液を調製した。

1区分：約144mL 2区分：約72mL 3区分：約60mL

4区分：約36mL 5区分：約36mL 6区分：約132mL

b) EM液

イソプロピルアルコール2400ml、ヘプタン600ml、1N N_2SO_4 60mlを混合して、EM液を調製した。

【0040】(3) 脂肪合成の測定

6%BSA、3mMグルコース溶液175 μ lにPacked fat cells 40 μ lを加えた後、37℃で20分間インキュベートした。これに酒粕水抽出液25 μ lを加えた後、37℃で5分間インキュベートした。次いで、1mMインスリン25 μ lを加え、37℃で5分間インキュベートした。 ^{14}C -グルコース25 μ lを加え、37℃で30分間インキュベートした。次いで、EM液0.83ml、ヘプタン0.5ml、水0.25mlを加え、ボルテックスで約15秒間混合した後、室温において3000rpmで3分間遠心分離した。上清133.3 μ lにトルエンシンチレーター7.5mlを加え、カウントした。得られた結果を図4に示した。

【0041】これらの結果から、酒粕抽出液には、脂肪細胞におけるノルエピネフリンによる脂肪分解を抑制し、グルコースからの脂肪合成には何ら影響しない成分が含有されていることが確認された。

【0042】

【実施例4】酒粕水抽出液分画成分のインスリン様作用を以下により確認した。

【0043】(1) 酒粕水抽出液の分画

Sephadex G-10（商品名）を用いて酒粕水抽出液を6区分に分画し、第3区分62.5mgをIR120B（商品名）により吸着区分と非吸着区分に分離し、IR120B吸着区分15.8mg（凍結乾燥重量）及びIR120B非吸着区分25.7mg（凍結乾燥重量）を得た。収率は、 $41.5/62.5 \times 100 = 66.4\%$ であった。

【0044】吸着区分についてODS-80T（商品名）を用いる逆相クロマトグラフィーによる分画を行った。逆相クロマトグラフィーの条件は次のとおりとした：HPLC 島津LC-9A；Buffer 20%アセトニトリル、流量3mL/min；カラム TOSO-ODS-80Ts（21.5 \times 300mm）分取用；Detector O.D._{220nm}（RANGE1.28）；分画ADVANTEC SF-2120、3mL/tubeで分取した。

【0045】試料として上記吸着区分を4mgとり、20mlの水に溶解分画した（500 μ lずつ4回に分けてインジェクションした）。9区分に分画し、4回分を合併した後凍結乾燥した。各区分の分画後の合併容量は次のとおりであった：

7区分：約120mL 8区分：約48mL 9区分：約36mL

【0046】(2) 脂肪分解の測定

実施例3(3)において、酒粕水抽出液にかえてサンプル溶液(上記した1~9区分溶液)を用いたほかは、同じ操作を行って測定を行った。得られた結果を図5に示した。上記結果から明らかなように、酒粕水抽出液画分(特に1、7、9区分)についても、酒粕水抽出液と同様の作用が確認された。

【0047】

【実施例5】グラニュー糖50g、コーンスターチと乳糖の等量混合物30g、ビタミンC20gに、実施例1にしたがって製造した酒粕抽出液の凍結乾燥品を20g加えて混合した。得られた混合物を100等分して袋に詰め、スティック状の食品タイプの組成物を100袋製造した。

【0048】

【実施例6】グラニュー糖150g、蜂蜜15g、ビタミンC1g、クエン酸0.5g、実施例1にしたがって製造した酒粕抽出液の凍結乾燥品100g、香料適量に水を加えて1kgとし、これを95℃で20分間殺菌し、100mlずつ無菌的にビンに充填して、ドリンクタイプの組成物を製造した。

【0049】

【発明の効果】本発明に係る組成物は、NK細胞活性の促進、トキソホルモン-Lの阻害、インスリン様作用、アミラーゼ阻害といった生理活性を有するので、例えば癌、癌に起因するやせの症状、糖尿病、肥満等の予防ないし治療に有効である。

【0050】特に本組成物は、安全性については全く問題のない酒粕を使用するものであるので、飲食品タイプの組成物として長期間に亘って摂取することができ、上記疾患や症状の予防、これらの患者の術後、あるいは保健上の目的でも有利に使用することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】酒粕のNK活性に及ぼす作用を示す。p<0.05(対照比)

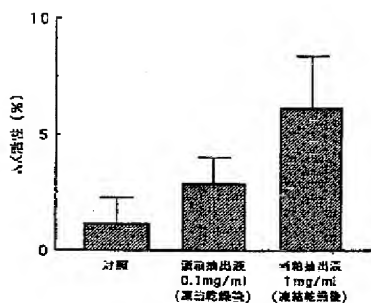
【図2】トキソホルモン-LによるLipolysis(脂肪細胞の脂肪分解)に対する酒粕の作用を示す。

【図3】ノルエピネフリンによるLipolysisに対する酒粕の作用を示す。

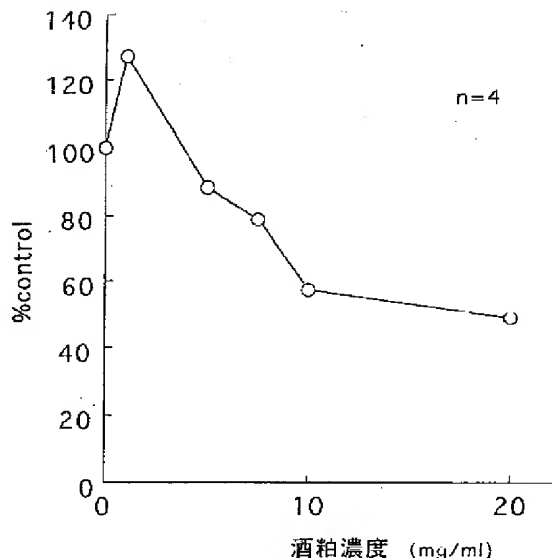
【図4】酒粕のLipogenesis(脂肪合成)に対する作用を示す。

【図5】酒粕分画成分のノルエピネフリンによるLipolysisに対する作用を示す。

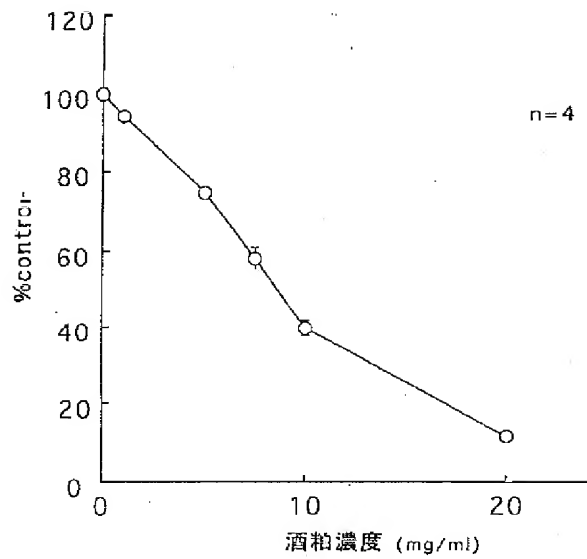
【図1】



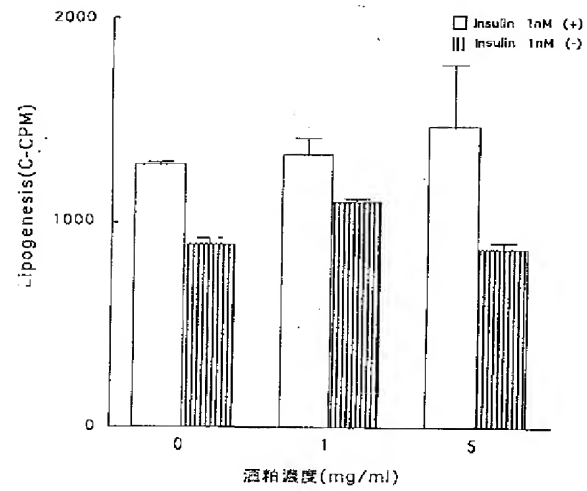
【図2】



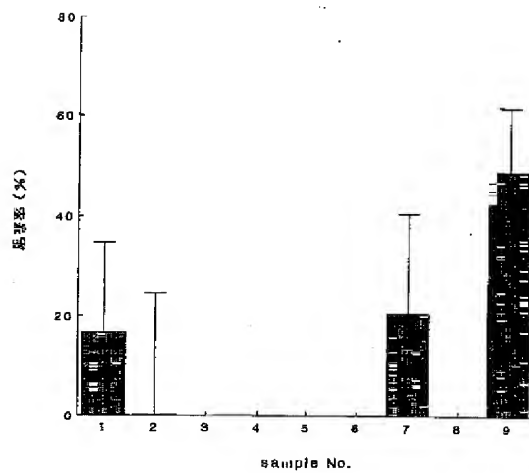
【図3】



【図4】



【図5】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁶

// A61K 35/78

識別記号

ADP

AED

FI

A61K 35/78

A23L 2/00

AED

F